

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**PRIMJENA BIOPOLIMERNIH KAPSULA U
KONVENCIONALNOM UZGOJU SALATE**

DIPLOMSKI RAD

Filip Haramija

Zagreb, veljača, 2019.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:
Hortikultura-Povrćarstvo

**PRIMJENA BIOPOLIMERNIH KAPSULA U
KONVENCIONALNOM UZGOJU SALATE**

DIPLOMSKI RAD

Filip Haramija

Mentor: izv. prof. dr. sc. Božidar Benko

Zagreb, veljača, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Filip Haramija**, JMBAG 0178092595, rođen dana 11.04.1993. u Ludbregu, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

PRIMJENA BIOPOLIMERNIH KAPSULA U KONVENCIONALNOM UZGOJU SALATE

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta **Filipa Haramije**, JMBAG 0178092595, naslova

PRIMJENA BIOPOLIMERNIH KAPSULA U KONVENCIONALNOM UZGOJU SALATE

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

- | | | |
|----|---|-------|
| 1. | izv. prof. dr. sc. Božidar Benko mentor | _____ |
| 2. | izv. prof. dr. sc. Marko Vinceković član | _____ |
| 3. | prof. dr. sc. Nina Toth član | _____ |

Zahvala

Istraživanje za potrebe izrade ovog diplomskog rada provedeno je u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost „Nove biopolimerne mikrokapsule za kontrolirano otpuštanje tvari za zaštitu/ishranu bilja“ (NoveBioKap), na pokušalištu Maksimir Zavoda za povrćarstvo i u laboratoriju Zavoda za kemiju Agronomskog fakulteta.

Sadržaj

1.	Uvod	1
1.1.	Cilj istraživanja	1
2.	Pregled literature	2
2.1.	Hranidbena i zdravstvena vrijednost	2
2.2.	Morfološka svojstva salate	3
2.3.	Biološka svojstva salate	4
2.4.	Uzgoj na otvorenom	4
2.5.	Biopolimerne mikročestice	6
3.	Materijali i metode	8
3.1.	Priprema mikročestica (mikrosfere i mikrokapsule)	8
3.2.	Postavljanje i provedba pokusa	8
3.4.	Kemijske analize	11
3.4.1.	Priprema uzorka salate	11
3.4.2.	Suha tvar	12
3.4.3.	Ukupni klorofil	13
3.4.4.	Ukupni polifenoli	13
3.4.5.	Ukupni flavonoidi	13
3.4.6.	Antioksidacijska aktivnost	13
4.	Rezultati istraživanja i rasprava	14
4.1.	Morfološka svojstva	14
4.2.	Prinos salate	15
4.3.	Suha tvar	16
4.4.	Ukupni klorofil	17
4.5.	Ukupni polifenoli	18
4.6.	Ukupni flavonoidi	19
4.7.	Antioksidacijska aktivnost	20
5.	Zaključak	22
6.	Popis literature	23

Sažetak

Diplomskog rada studenta **Filipa Haramije**, naslova

PRIMJENA BIOPOLIMERNIH KAPSULA U KONVENCIONALNOM UZGOJU SALATE

Salata (*Lactuca sativa* L.) sadrži bioaktivne spojeve koji su korisni za zdravlje ljudi, a povećanje njihove koncentracije postalo je cilj uzgojnih programa. Biopolimerne mikročestice jedan su od načina kako poboljšati morfološka (visina i promjer, biomasa i tržna masa rozete) i nutritivna svojstva (udjel suhe tvari, ukupni klorofil, ukupni polifenoli i flavonoidi i antioksidacijska aktivnost) salate. U ovom istraživanju postavljen je jednofaktorijalni pokus sa salatom sorte 'Melina' u tipu batavie. Prilikom sadnje presadnica, u tlo je inkorporirano osam vrsta biopolimernih mikročestica sastavljenih od nosača alginata s ili bez dodatnog kitozan omotača, s aktivnim tvarima: Ca^{2+} , Cu^{2+} , $\text{Ca}^{2+}/T. \text{viride}$, $\text{Cu}^{2+}/T. \text{viride}$. Primijenjena je i fiziološka otopina *T. viride* spora dok je kontrolna varijanta bila bez aplikacije mikročestica. Aplikacija mikročestica nije rezultirala značajnim razlikama u morfološkim svojstvima salate. Neinkapsuliranim sporama *T. viride* (u fiziološkoj otopini) ostvareni su značajno najveći prinos ($6,82 \text{ kg m}^{-2}$) i količina suhe tvari (7,07 %) u listovima salate. Primjena biopolimernih mikrosfera s aktivnom tvari Ca^{2+} dovela je do značajnog povećanja ukupnog klorofila ($1862 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{ST}$), ukupnih polifenola ($4,58 \text{ mg EGK}\cdot\text{g}^{-1} \text{ ST}$) i flavonoida ($9,65 \text{ mg EK}\cdot\text{g}^{-1} \text{ ST}$) te antioksidacijske aktivnosti ($21,92 \mu\text{mol ET g}^{-1} \text{ ST}$) u odnosu na kontrolnu varijantu.

Ključne riječi: *Lactuca sativa* L., biopolimerne mikročestice, morfološka svojstva, prinos, nutritivna svojstva, antioksidacijska aktivnost

Summary

Of the master's thesis - student **Filip Haramija**, entitled

APPLICATION OF BIOPOLYMERIC MICROCAPSULES IN CONVENTIONAL LETTUCE GROWING

Lettuce (*Lactuca sativa* L) contains several compounds that are useful in human health. Increasing concentrations of key healing compounds have become the goal of breeding programs. Application of biopolymeric microcapsules could improve morphologic characteristics (rosette height, diameter, biomass, and marketable weight) and nutritive characteristics (dry matter content, total chlorophyll, total polyphenols, total flavonoids and antioxidant activity) of lettuce. In this research, a one-factorial experiment with the batavia lettuce 'Melina' was set up. When planting seedlings, eight types of biopolymer microparticles made of sodium alginate as a carrier with or without chitosan coating with active ingredients Ca^{2+} , Cu^{2+} , $\text{Ca}^{2+}/T. \text{viride}$, $\text{Cu}^{2+}/T. \text{viride}$ were incorporated into the soil. The physiological solution of *T. viride* spore was also applied while control was without applications of the microparticles. There was no significant difference in the morphological properties of the lettuce using the microparticles. The nonencapsulated *T. viride* (in saline solution) yields significantly highest yield ($6,82 \text{ kg m}^{-2}$) and significantly higher dry matter share ($7,07 \%$). The application of biopolymer microspheres with the Ca^{2+} active agent resulted in a significant increase of total chlorophylls ($1862 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \text{ dw}$), total polyphenols ($4,58 \text{ mg EGK}\cdot\text{g}^{-1} \text{ dw}$), total flavonoids ($9,65 \text{ mg EK}\cdot\text{g}^{-1} \text{ dw}$) and antioxidant activity ($21,92 \mu\text{mol ET g}^{-1} \text{ dw}$) in comparison to the control variant.

Key words: *Lactuca sativa* L., biopolymeric microparticles, morphologic characteristics, yield, nutritive characteristics, antioxidant activity

1. Uvod

Salata je jedna od najrasprostranjenijih vrsta lisnatog povrća. Ubraja se u porodicu glavočika (Asteraceae syn. Compositae). Kako je vegetacija salate kratka, moguće je tijekom sezone obaviti 2 do 3 uzgojna ciklusa na istoj površini uz uvjet da je pretkultura iz druge porodice. Listovi salate imaju nisku kalorijsku vrijednost zbog vrlo malog sadržaja energetske tvari, ali su važan izvor vlakana i minerala, posebice kalcija i željeza (Slamet, 2017). Osim osnovnih hranjivih tvari, salata sadrži i bioaktivne spojeve koji su korisni za zdravlje ljudi. Među njima, najistaknutiji su spojevi s antioksidacijskom aktivnosti, flavonoidi, polifenoli, klorofil i vitamin C. Flavonoidi i polifenoli su sekundarni proizvodi metabolizma koji su rasprostranjeni u biljkama te imaju različite uloge. Uključeni su u mehanizme zaštite biljke od insekata i patogena, što je od velike ekološke važnosti. Učinak bioaktivnih spojeva na ljudski organizam istražuje se u prevenciji i liječenju zloćudnih i kardiovaskularnih bolesti. Stoga je povećanje njihovih koncentracija u salati postalo cilj oplemenjivačkih programa (Fan, 2013) i tehnoloških inovacija među kojima se ističe primjena biopolimernih mikročestica s kemijskom i biološkom sastavnicom.

Inkapsulacija je proces u kojem se aktivni sastojci, čvrsti, tekući ili plinoviti, imobiliziraju u čestice koje kontrolirano otpuštaju potrebne aktivne sastojke. Ovaj postupak omogućuje osjetljivijim materijalima da se fizički obaviju zaštitnim materijalom kako bi se aktivni sastojci unutar kapsula zaštitili od neželjenih djelovanja. Takav postupak inkapsulacije aktivnih tvari u mikrokapsule (mikroinkapsulacija) prepoznat je kao inovativan i koristan u ekološkoj i održivoj poljoprivredi (Hack i sur., 2012; Bedek, 2018). Mikročestice s jednom aktivnom tvari u širokoj su upotrebi kao i u poljoprivrednoj proizvodnji. Nove spoznaje o istovremenoj inkapsulaciji kemijskog i biološkog sredstva još su ograničene (Vinceković i sur., 2017). Aplikacija biopolimernih mikročestica koje sadrže kemijsku i biološku komponentu u tlo prilikom sadnje salate mogla bi dovesti do skraćivanja vegetacije, povećanja tržišne mase odnosno prinosa salate te poboljšanja kvalitete zbog povećane dostupnosti hranjiva u tlu.

1.1. Cilj istraživanja

Cilj provedenog istraživanja bio je utvrditi utjecaj biopolimernih mikročestica s primarnim nosačem aktivnih tvari (Ca^{2+} , Cu^{2+} , $\text{Ca}^{2+}/T. \text{viride}$, $\text{Cu}^{2+}/T. \text{viride}$) – alginatom, odnosno, mikrokapsula s dodatnim omotačem kitozanom, na morfološka svojstva, prinos i sadržaj biološki aktivnih spojeva u salati uzgajanoj na otvorenome u proljetnom roku uzgoja.

2. Pregled literature

2.1. Hranidbena i zdravstvena vrijednost

Salata se kao namirnica koristi preko 2500 godina, dok je prvi put opisana u 16. stoljeću, a uzgajala se u samostanskim vrtovima. Koristi se kao svježa jer se tako najbolje iskorištava njena hranidbena vrijednost. U raznim krajevima svijeta koristi se na različite načine te se tako servira prije glavnog jela, uz glavno jelo ili nakon glavnog jela. Najčešće se koristi kao prilog uz dodatak začina, octa, ulja ili nekog drugog preljeva. Salatu je najbolje konzumirati svježe ubranu iz vrta uz pranje vodom radi uklanjanja nečistoća. Zeleni listovi bogatiji su vitaminima od unutarnjih listova u glavici, dok žile u listu sadrže više natrijeva i kalijeva citrata i vlakana. Sadržaj vode u biljci iznosi od 91 do 95 % dok je udjel energetskih tvari (masti, bjelančevine i ugljikohidrati) mali. Salata sadrži značajan izvor vlakana (0,54-1,5%) i minerala (0,43-1,4 %) (tablica 2.1.1.). Nadalje, salata sadrži oko 48 mg·100 g⁻¹ limunske kiseline te 65 mg·100 g⁻¹ jabučne kiseline koje joj daju prepoznatljiv okus. Gorak okus salate uzrokuju laktopikrin, laktucinske kiseline, laktoceryl i neolaktucin (Parađiković, 2009). Sa zdravstvenog gledišta salata je korisna za rad bubrega i srca, povoljno djeluje na napete živce, smiruje kašalj i dr. Povoljno utječe na bolesti astme, nesаницe i pospješuje probavu.

Tablica 2.1.1. Udjel hranjivih tvari u svježoj salati (%)

Hranjive tvari	%
Voda	91,2-95,9
Sirove bjelančevine	0,8-2,25
Sirove masti	0,1-0,4
Ugljikohidrati	0,1-2,9
od toga šećeri	0,1
Vlakna	0,54-1,5
Minerali	0,43-1,4

Izvor: Lešić i sur. (2016)

Klorofil je daleko najbrojniji pigment kod biljaka, dok je zeleno lisnato povrće bogat izvor prirodnog klorofila. Morna (2015) je utvrdila količinu ukupnih klorofila u salati od 20,44, do 22,63 mg 100 g⁻¹ svježe tvari, ovisno o otapalu. Njegova razgradnja odvija se tijekom obrade hrane, ali i tijekom skladištenja proizvoda. U ljudskom organizmu klorofil pomaže u obnavljanju crvenih krvnih stanica, te povećava čovjekovu energiju i zdravlje. Pozitivno djeluje na cirkulaciju, u borbi protiv infekcija, poboljšava probavu (Limantara i sur., 2014).

Biljni spojevi polifenoli imaju jaku antioksidacijsku aktivnost. Kod ljudske prehrane najviše ih ima u voću, povrću, čaju te kakau. Prema znanstvenim istraživanjima polifenoli korisno djeluju zbog svoje specifične biološke aktivnosti kojom štite srce, krvne žile i imunološki sustav.

Potencijalno povoljno djeluju na prevenciju kroničnih upalnih bolesti, karcinoma i sl. Sastavni su dijelovi biljnih organa te indirektno utječu na rast biljke te povećavaju otpornost biljke na mikroorganizme i bolesti (Nazzaro i sur., 2012). Boo i sur. (2011) su utvrdili značajna variranja u količini polifenola (od 2,48 do 29,14 mg GAE·g⁻¹ s.tv.) u listovima salate ovisno o dnevnim i noćnim temperaturama tijekom uzgoja

Flavonoidi spadaju u skupinu polifenola. Uključeni su u prijenos energije, djeluju na hormone i regulatore rasta. Također imaju utjecaj u fotosintezi. Odgovorni su za raznobojnost povrća (crvena, plava, ljubičasta), te štite biljku od mikroba i insekata. Nemaju direktan utjecaj na rast i razvoj biljke, ali su zato moćni antioksidansi (Jatoi i sur., 2017). Zivcak i sur. (2017) su utvrdili kako izlaganje direktnoj sunčevoj svjetlosti pri variranju ekoloških uvjeta dovodi do značajnog povećanja sadržaja ukupnih fenolnih spojeva i flavonoida u listovima salate. Osim toga, značajne su razlike utvrđene i među testiranim genotipovima. Varijabilnost je djelomično povezana s bojom, budući da su crveni genotipovi imali značajno veći sadržaj ukupnih fenolnih spojeva (u uzgoju na otvorenome i u zaštićenom prostoru) i flavonoida (u uzgoju na otvorenome).

2.2. Morfološka svojstva salate

Salata je jednogodišnja biljka. Korijen joj je vretenast i razgranat, a iz glavnog korijena izbijaju postrane korjenove žilice prvog i drugog reda. Glavnina korijena nalazi se u površinskom sloju tla (do dubine 30 cm), a u promjeru odgovara promjeru rozete.

Listovi salate razlikuju se ovisno o sorti te tako mogu biti ovalni, okrugli, više ili manje nazubljeni. Prema strukturi i obliku lista razlikuje se više varijeteta salate:

- Salata glavatica (*L. sativa* var. *capitata*)
- Lisnata salata (*L. sativa* var. *crispa*)
- Salata romana (*L. sativa* var. *romana*)
- Salata stablašica (*L. sativa* var. *angustana*)
- Dugolisna salata (*L. sativa* var. *longifolia*)

Kod salate glavatice koja se u Hrvatskoj najčešće uzgaja, listovi su sjedeći i zbog kratkih internodija i aktivnog centralnog pupa koji konstantno proizvodi novo lišće tvori se glavica. Unutarnji listovi su svijetložute ili krem boje, dok vanjski imaju tamno zeleno obojenje i znatno su veći.

Stabljika salate sastoji se od nodija i internodija koji su u prvoj godini vegetacije skraćeni, dok se u generativnoj fazi naglo izdužuju te stabljika doseže visinu do 1,5 m. Cvjetovi glavočika skupljeni su u glavicu koja je obavijena pricvjetnim listovima. Izvana su cvjetovi obavijeni sterilnim ovojem koji se sastoji od ljusaka. U svakom cvatu nalazi se oko 15 dvospolnih jezičastih žutih cvjetova. Uglavnom prevladava samooplodnja, ali je moguća i stranooplodnja insektima.

Plod je roška sive, smeđe ili crne boje. Sjemenke su izduženog ili ovalnog oblika. Masa 1000 sjemenki iznosi 0,6 do 1,3 g, dok u jednom gramu ima oko 800 do 1000 sjemenki (Parađiković, 2009; Lešić i sur., 2016; Krmpotić, 2012).

2.3. Biološka svojstva salate

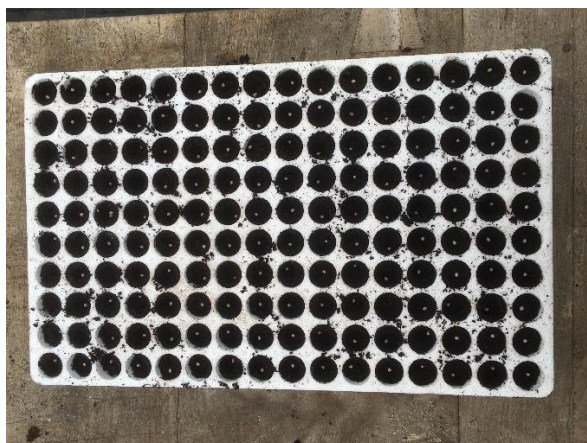
Salata je biljka dugog dana i blage klime te su joj za vegetativnu fazu razvoja potrebne temperature između 12 i 20 °C. Optimalne temperature za klijanje sjemeni iznose 15 do 20 °C, kada salata niče za 3 do 5 dana. Minimalne temperature klijanje su 3 do 5 °C. Kod temperatura većih od 20 °C, ako su tlo i zrak suhi, dolazi do smanjenja prinosa te kvalitete salate. Mlada biljka podnosi niske temperature do -5 °C, a biljka s 5 do 7 listova može prezimiti u kontinentalnoj klimi bez oštećenja, ako je dobro ukorijenjena (Jurčević, 2015).

U uzgoju na otvorenome salata najbolje uspijeva na srednje teškom, strukturnom tlu bogatom organskim hranjivima, dok se za raniji uzgoj preporučuju lakša tla koja su pogodnija bržem zagrijavanju. Poželjna su neutralna tla, pH-vrijednosti oko 7. Salata je osjetljiva na soli u tlu, te sadržaj soli iznad 0,3 % može izazvati smanjenje prinosa. Raznovrsna klima na području Hrvatske omogućuje proizvodnju tijekom cijele godine. Proljetni kultivari presađeni krajem ožujka dopijevaju u svibnju i lipnju. Ljetni kultivari dopijevaju u srpnju, a moguća je i berba u kolovozu ako je dostupno navodnjavanje. Ozimi kultivari sade se u jesen te nakon prezimljavanja dopijevaju u travnju i svibnju.

Monokultura u uzgoju salate je moguća. Unatoč tome, treba izbjegavati dugotrajan uzgoj na istom tlu. Zbog svoje kratke vegetacije, salata se može uzgajati kao međukultura. Kroz jednu godinu moguće je imati dva do tri proizvodna ciklusa (Lešić i sur. 2016; Parađiković, 2009).

2.4. Uzgoj na otvorenom

Uzgoj na otvorenom u većini slučajeva počinje proizvodnjom presadnica jer je proizvodnja salate izravnom sjetvom rijetkost. Uzgoj presadnica s grudom supstrata u polistirenskim kontejnerima omogućuje bolje i efikasnije nicanje i porast presadnica a odvija se u zaštićenom prostoru. Uzgoj u kontejnerima omogućuje pravilan i jednak vegetacijski prostor te uvelike doprinosi ujednačenom porastu biljaka i visokoj ujednačenosti presadnica. Supstrati koji se koriste pri uzgoju moraju biti sterilizirani i bez uzročnika bolesti i ne smiju sadržavati štetnike u bilo kojem obliku, a također niti kljave sjemenke korova. Prema Spevec (2016) i Lešić i sur. (2016) za uzgoj presadnica salate najčešće se koriste polistirenski kontejneri sa 160 lončića u koje se pojedinačno odlaže zdravo, pilirano sjeme (slika 2.4.1.).



Slika 2.4.1. Pilirano sjeme posijano u polistirenski kontejner
(snimio: Filip Haramija)

Tijekom uzgoja presadnica potrebno je održavati mikroklimatske uvjete u zaštićenom prostoru. Temperatura zraka se do nicanja presadnica održava na oko 20 °C (3 do 5 dana), dok se nakon toga smanjuje na oko 15 °C. U ljetnom uzgoju presadnica nužno je prevladati termodormatnost sjemena. Zbog toga je za jednolično nicanje u slučaju viših temperatura potrebno kontejnere navlažiti hladnom vodom. Presadnice moraju biti ujednačene i bez atipičnih biljaka. Uzgoj traje 3 do 6 tjedana ovisno o dužini dana (Toth, 2016). Prije sadnje presadnice je potrebno priviknuti na vanjske uvjete. Sadnja se odvija kad salata dospije u fazu 4 do 5 sasvim razvijenih listova. Prije sadnje tlo je potrebno pripremiti i usitniti, a neposredno pred sadnju i navlažiti. U ekološkim uvjetima panonske poljoprivredne regije sadnju je na otvoreno moguće je obaviti početkom ožujka. Za sadnju presadnica početkom travnja sjetvu je potrebno obaviti početkom ožujka, dok se berba očekuje početkom i sredinom lipnja (Lešić i sur., 2016; Parađiković, 2009).

Sadnja se obavlja plitko u tlo do korijenovog vrata koji mora ostati slobodan, što predstavlja prvu mjeru protiv truleži. Tlo mora biti mrvičaste strukture kako bi se presadnice što bolje prilagodile. Na manjim površinama sadnja se obavlja ručno na gredice u 3 do 4 reda, dok se na većim površinama sadnja obavlja strojno u trake sa 4 do 6 redova. Širina grede najčešće iznosi 100 do 120 cm. Razmak između redova je 25 do 35 cm ovisno o uzgajanom kultivaru, dok je razmak između biljaka u redu 20 do 35 cm. Odmah nakon sadnje tlo se zalijeva kako bi se korijen što bolje ukorijenio. U proljetnom uzgoju može se koristiti crna polietilenska folija za malčiranje tla kako bi se potaknuo rast i razvoj biljke. U ljetnom uzgoju moguća je upotreba bijelih polietilenskih folija koje reflektiranjem svjetla smanjuju temperaturu oko biljaka te im tako osiguravaju optimalne uvjete. Kako je salata biljka dugog dana, svjetlo je bitan čimbenik u njezinu razvoju na otvorenom. Većom količinom svjetla tijekom proizvodnje vegetacija je kraća (Lešić i sur., 2016; Matotan 2004).

Njega nasada sastoji se od redovitog rahljenja tla sve dok rozeta salate ne prekrije tlo. Rahljenjem tla mehanički se uništavaju i korovi između biljaka. Navodnjavanje je bitan čimbenik uzgoja salate jer je potrebna dobra opskrbljenost biljaka vodom. Vлага tla ne bi smjela biti manja od 65 % poljskog vodnog kapaciteta (Lešić i sur., 2016). Budući da salata ima

plitak korijen ne može doprijeti do vode iz dubljih slojeva tla, pa je potrebno dobro opskrbiti vodom površinskih 15 cm. U proljetnom uzgoju salate potrebno je oko 150 L vode·m⁻². Navodnjavanje je najbolje obavljati rano ujutro ili noću da se preko dana zbog vlage na lišću ne pojavljuju bolesti.

Salata se bere selektivno kada glavica postigne ciljanu veličinu i čvrstoću. Berba se obavlja rezanjem nožem u zoni korijenovog vrata u 2 do 3 navrata. Osim ručno, na većim površinama se može brati i mehanizirano. Prinosi salate na otvorenom su 30 do 40 t·ha⁻¹.

2.5. Biopolimerne mikročestice

Tehnologija inkapsulacije nova je metoda u poljoprivredi tako da se još uvijek istražuje učinak biopolimernih mikročestica na rast i razvoj biljaka kod kojih se primjenjuje. Uporaba raznih sredstava za zaštitu bilja utječe na sigurnost hrane, zdravlje ljudi i na okoliš jer su neka sredstva postojani onečišćivači. Korištenje agrokemikalija u suvremenoj poljoprivredi je potrebno, međutim, ne koriste se uvijek u skladu s pravilima struke. Kako bi se smanjili nepotrebni štetni utjecaji na zdravlje ljudi i na okoliš, agrokemikalije se moraju koristiti na siguran i učinkovit način. U cilju smanjenja negativnih učinaka agrokemikalija, u svijetu se kontrolira i smanjuje njihova primjena čemu doprinosi introdukcija agrotehničkih mjera s minimalnom upotrebom agrokemikalija (Vinceković i sur., 2016).

Inkapsulacija se počela koristiti kod primjene pesticida i gnojiva radi poboljšanog otpuštanja i smanjene količine aktivne tvari. Također, dolazi do smanjena broja potrebnih tretmana, a samim time i do manje rada u polju za poljoprivrednike (Oxley, 2015). Primjena mikročestica je sigurna i praktična za rukovanje. Ovisno o veličini čestica može se odrediti brzina oslobađanja aktivnog sastojka. U primjeni mikročestica u poljoprivredi važno je koristiti netoksične i biorazgradive polimere (Bedek, 2018). Razne formulacije mikročestica u poljoprivredi se najviše koriste za primjenu pesticida. Zaštita bilja u takvoj formi poboljšava iskorištenje aktivne tvari i smanjuje onečišćenje okoline. Oslobađanje inkapsuliranog pesticida traje tijekom duljeg vremena, te se primjenjuje rjeđe, umjesto korištenja visokih koncentracije u kratkom vremenu pri čemu dolazi do ispiranja, isparavanja i degradacije.

Biopolimeri su biorazgradivi i nalaze se u dovoljnim količinama u prirodi. Nisu toksični, obnovljivi su i prihvatljive su cijene. Imaju sva svojstva sintetičkih spojeva s poboljšanjima iz prirodnih sustava. Polisaharidi, kitozan i alginat su biopolimeri dobre sposobnosti formiranja mikročestica ionskim geliranjem. Ionsko geliranje je svojstvo geliranja polisaharida u vodenim otopinama u prisutnosti dvo i trovalentnih iona. Tijekom korištenja ove metode zadržava se aktivnost molekula tijekom inkapsulacije (Usmiati i sur., 2014). Polisaharidi (kitozan, alginat, pektin i gellan guma) dobivaju se iz ljuski rakova ili poljoprivrednih sirovina.

Gljive roda *Trichoderma* koriste se zbog svoje sposobnosti da kroz razgradnju biljnih ostataka u tlu djeluju protiv biljnih patogena. Šireći se kroz tlo provode biokontrolu protiv gljivičnih fitopatogena. Rastu natječući se za prostor i hranjive tvari, a potiču rast i razvoj biljaka, mehanizme obrane te antibiozu. Najčešće korišteni agensi iz roda *Trichoderma* su *T. viride*, *T.*

virens i *T. harzianum*. Pokazali su najbolja svojstva u preživljavanju u nepovoljnim uvjetima, imaju visok reproduktivan kapacitet i učinkovitiji su u korištenju hranjivih tvari. Aktivacijom genskih receptora koji reagiraju na alkalne uvjete, agensi imaju sposobnost zakiseljavanja okoline. Imaju vrlo veliku učinkovitost u poticanju biljke na rast te snažnu odbojnost prema fitopatogenim gljivama. Inokulacijom u tlo sojevi vrlo brzo rastu te koloniziraju površinu korijena povezujući se s biljkom domaćinom. Uspostavljanjem odnosa dolazi do proizvodnje spojeva koji pospješuju povećanu otpornost biljaka (Bedek, 2018).

Biljke primaju kalcij u ionskom obliku (Ca^{2+}) čije usvajanje teče sporije od ostalih elemenata. Kalcij se u biljci transportira ksilemom, dok je kretanje floemom vrlo slabo. Netoksičan je mineralni element te sudjeluje u izgradnji raznih kompleksnih spojeva. Utječe na kemijska i fiziološka svojstva tla, održava propustljivost i stabilnost stanične membrane, kontrolira enzime stanične stijenke i regulira transport iona. Povoljno djeluje na procese amonifikacije i nitrifikacije, pa utječe na održavanje strukture tla (Vinceković i sur., 2016; 2017).

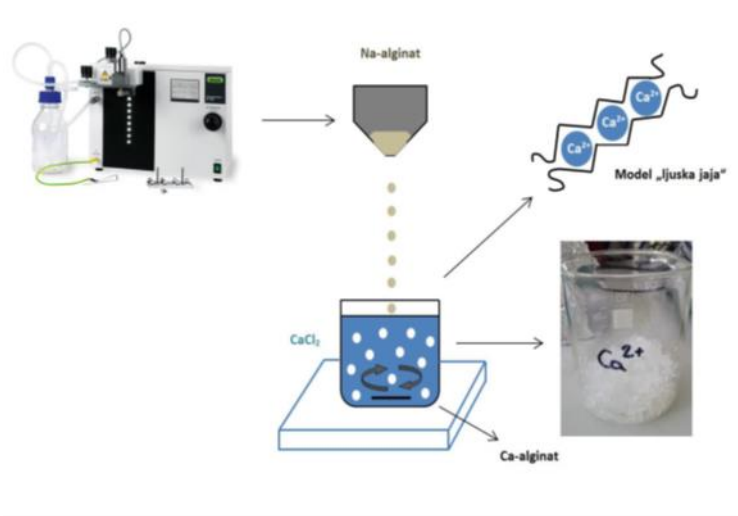
U novije vrijeme sve više se inkapsulacijom u poljoprivredi primjenjuju agroformulacije s dva ili više aktivnih sastojaka. Iako je za inkapsulaciju aktivnih sastojaka razrađen niz metoda, pregled literature daje malo podataka o simultanoj inkapsulaciji i isporuci bioloških i kemijskih sastojaka. Zbog njihove kompatibilnosti, *T. viride* i kalcijevi ioni prikladan su par za simultanu inkapsulaciju. Prednost gljive *T. viride* je u mogućnosti preživljavanja u nepovoljnim uvjetima, sposobnosti zakiseljavanja okoline, poticanju rasta biljaka i visokom reproduktivnom kapacitetu. Sve više se primjenjuje zbog sposobnosti da mikoparazitira patogene gljive, razgrađuje biljne ostatke u tlu, stimulira proizvodnju fitohormona i dr. (Vinceković i sur., 2016). Kalcijev ion je hranjivo biljkama važno zbog održavanja strukture i funkcioniranja membrana, stabilizira staničnu stijenku, regulira ionski transport te kontrolira aktivnost enzima stanične stijenke.

Gel kalcijevog alginata ima prednost u tome što je siguran za okoliš, jednostavno se izrađuje te za njega nisu potrebni visoki troškovi. Nedostaci gela su niska stabilnost i visoka poroznost te smanjena viskoznost i čvrstoća prilikom obrade pri višim temperaturama. Unatoč tome, inkapsulacija je sve popularnija zbog mogućnosti usporenog i kontroliranog otpuštanja aktivnog sredstva, dužeg učinka gnojidbe i jednostavnije primjene. Jedna primjena tijekom vegetacije dovoljna je za zadovoljavanje biljnih potreba. Samo jednom primjenom smanjuje se broj prohoda preko parcele, što korijenu omogućuje bolje uvjete za rast i razvoj (Vinceković i sur., 2016). Prema istraživanjima Topolovec-Pintarić i sur. (2017) utvrđeno je kako inkapsulacija spora *T. viride* i kalcija omogućuje biljci lakšu dostupnost ionu kalcija zbog djelovanja gljive zbog čega biljka ima brži porast.

3. Materijali i metode

3.1. Priprema mikročestica (mikrosfere i mikrokapsule)

Priprema mikročestica odvija se postupkom ionskog geliranja pri sobnoj temperaturi (slika 3.1.1.). Izrada počinje dokapavanjem 100 ml otopine natrijevog alginata (nosača aktivne tvari) u 100 ml otopine CaCl_2 uz pomoć uređaja Büchi-B390 Encapsulator (BÜCHI Labortechnik AG, Švicarska). Smjesa natrijevog alginata (1,5 %) i *T. viride* spora ili čista otopina natrijevog alginata propuštaju se kroz mlaznicu veličine 300 μm pri frekvenciji vibracija 800 Hz i tlaku od 120 mbar. Dobivene mikrosfere nastaju gotovo trenutno. Nakon procesa inkapsulacije, mikrosfere se dodatno miješaju pomoću magnetne miješalice 30 minuta kako bi sfere dodatno očvrstnule. Naknadno se ispiru destiliranom vodom kako bi se isprao višak CaCl_2 . Postupak uzgoja sojeva *T. viride* radi se u Petrijevim zdjelicama promjera 10 cm, obloženima krumpirovim dekstroznim agarom. Zdjelice se potom inkubiraju u inkubatoru na 25 °C tijekom sedam dana do pojave konidija. Nakon inkubacije špatulom se ostruže biomasa hifa i konidija sa zdjelice te se s otopinom natrijevog alginata homogenizira štapnim mikserom te profiltrira kroz muslin kako bi se selektivno izdvojile spore *T. viride* (Vinceković i sur., 2017; Bedek 2018).



Slika 3.1.1. Shematski prikaz pripreme mikrosfera kalcijevog alginata (Bedek, 2018)

3.2. Postavljanje i provedba pokusa

Istraživanje je provedeno na pokušalištu Maksimir Zavoda za povrćarstvo, Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta tijekom 2018. godine. Jednofaktorijalni pokus sa salatoma sorte 'Melina' postavljen je po slučajnom bloknom rasporedu u tri ponavljanja. Sorta 'Melina' (Enza Zaden, Nizozemska) u tipu batavije (slika 3.2.1.) pogodna je za uzgoj u proljeće, ljeto i jesen. Formira krupnu i dobro ispunjenu rozetu s mnogo kovrčavih listova po kojima se razlikuje od drugih batavija. Listovi rozete su fleksibilni te ne pucaju prilikom berbe i pakiranja.



Slika 3.2.1. Razvijena rozeta salate sorte 'Melina'
Snimio: Filip Haramija

Prema rezultatima kemijske analize tla (tablica 3.2.1.) radi se o tlu pogodno za uzgoj salate. Neutralne je reakcije, slabo humozno, dobro opskrbljeno dušikom i kalijem te bogato fosforom.

Tablica 3.2.1. Rezultati kemijske analize tla na pokušalištu Maksimir Zavoda za povrćarstvo

pH		%		AL-mg/100g	
H ₂ O	nKCL	humus	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
7,5	6,86	2,22	0,2	41,1	25,5

Prema dostupnim meteorološkim podacima za meteorološku postaju Maksimir, u periodu od travnja do lipnja, srednja mjesečna temperatura zraka je u rasponu od 11,2 do 19,4 °C, što je optimalno za uzgoj salate na otvorenom. Ipak, u travnju je još uvijek moguća pojava hladnih dana sa minimalnom temperaturom < 0 °C (2), odnosno, dana sa snijegom (1) i s mrazom (3). Tijekom uzgojnog perioda redovita je pojava toplih dana sa maksimalnom temperaturom ≥ 25 °C (od 1 u travnju do 16 u lipnju). Vrući dani ($t_{\max} \geq 30$ °C) mogu se javiti u svibnju (1) i lipnju (4). U sva tri mjeseca, ima 13 kišnih dana, a prosječna mjesečna količina oborina je u rasponu od 61,5 mm u travnju do 96,8 mm u lipnju (<http://meteo.hr>).

Sjetva salate obavljena je 19. ožujka 2018. godine u grijanom zaštićenom prostoru. Za sjetvu su korišteni polistirenski kontejneri sa 160 lončića, pri čemu je u svaki od lončića posijano po jedno pilirano sjeme. Kontejneri su napunjeni tresetnim supstratom Potgrond H (Klasmann-Deilmann GmbH, Njemačka). Tijekom uzgoja presadnica svakodnevno je kontrolirana i održavana temperatura zaštićenog prostora u rasponu od 20 do 25 °C, a prema potrebi obavljano je vlaženje.

Osnovna obrada tla obavljena je u jesen 2017., dok je predsjetvena priprema za sadnju frezanjem obavljena dan prije sadnje, kada je postavljen i sustav za navodnjavanje kapanjem. Obzirom na rezultate analize tla koji su pokazali dobru opskrbljenost tla glavnim hranjivima,

gnojidba za salatu nije provedena. Sadnja presadnica uz primjenu osam vrsta biopolimernih mikročestica sastavljenih od nosača alginata s ili bez dodatnog kitozan omotača, s aktivnim tvarima: Ca^{2+} , Cu^{2+} , $\text{Ca}^{2+}/T. \text{viride}$, $\text{Cu}^{2+}/T. \text{viride}$ obavljena je 24. travnja 2018. Uz korijen, tijekom sadnje, primijenjeno je 4 g mikročestica. Osim toga, primijenjena je i fiziološka otopina *T. viride* spora, a kontrola je bila bez primjene mikročestica (slika 3.2.2. i slika 3.2.3.). Razmak sadnje između redova i u redu bio je 30 cm. Sadnjom salate na navedene razmake ostvaren je sklop od 11 biljaka $\cdot \text{m}^{-2}$. Po osnovnoj parceli je posađeno 18 biljaka. Tijekom provedbe poljskog pokusa (slika 3.2.4. i slika 3.2.5.) obavljane su mjere njege. Po potrebi je obavljano mehaničko uklanjanje korova (okopavanje i plijevljenje) i navodnjavanje kapanjem. Zaštita od bolesti i štetnika nije obavljana.



Slika 3.2.2. i 3.2.3. Sadnja presadnica salate

Snimio: Filip Haramija



Slika 3.2.4. i 3.2.5. Poljski pokus mjesec dana nakon sadnje

Snimio: Filip Haramija

U istraživanju je testirana primjena različitih formulacija biopolimernih mikročestica:

- a) Alginat mikrosfere koje sadrže Ca^{2+} ione - Ca

- b) Alginat mikrosfere koje sadrže Cu^{2+} ione - Cu
- c) Alginat mikrosfere koje sadrže Ca^{2+} ione i spore *Trichoderme viride* - CaTv
- d) Alginat mikrosfere koje sadrže Cu^{2+} ione i spore *Trichoderme viride* - CuTv
- e) Alginat/kitozan mikrokapsule koje sadrže Ca^{2+} ione – Ca-c
- f) Alginat/kitozan mikrokapsule koje sadrže Cu^{2+} ione – Cu-c
- g) Alginat/kitozan mikrokapsule koje sadrže Ca^{2+} ione i spore *Trichoderme viride* - CaTv-c
- h) Alginat/kitozan mikrokapsule koje sadrže Cu^{2+} ione i spore *Trichoderme viride* - CuTv-c
- i) Spore *Trichoderma viride* suspendirane u fiziološkoj otopini (0.9%) - Tv
- j) Kontrola – bez primjene mikrosfera ili mikrokapsula - K

Kontrola služi kako bi se rezultati ostvareni primjenom mikročestica mogli usporediti s rezultatima uzgoja salate bez primjene tehnologije inkapsulacije.

3.3. Određivanje morfoloških svojstava i prinosa

Berba salate obavljena je selektivno, u 2 navrata u razmaku od 7 dana, 6. i 13. lipnja. Berba je obavljena ručno nožem, rezom u zoni korijenovog vrata. Prilikom berbe na 6 rozeta svake obračunske parcele obavljena je analiza morfoloških svojstava rozete. Mjereni su promjer i visina rozete, ukupna masa rozete prije primarne dorade (biomasa) i masa rozete nakon dorade (tržna masa) temeljem kojih je utvrđen randman koji predstavlja udio tržnog dijela rozete u ukupnoj biomasi. Na temelju podataka o tržnoj masi rozete i gustoći sklopa izračunat je prinos salate ovisno o primijenjenoj formulaciji biopolimernih mikročestica.

Statistička obrada rezultata provedena je statističkim programom MSTAT-C. Razlike između prosječnih vrijednosti promatranih svojstava analizirane su analizom varijance (ANOVA), a utvrđene značajne razlike između prosječnih vrijednosti testirane su LSD testom, na razini značajnosti $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$.

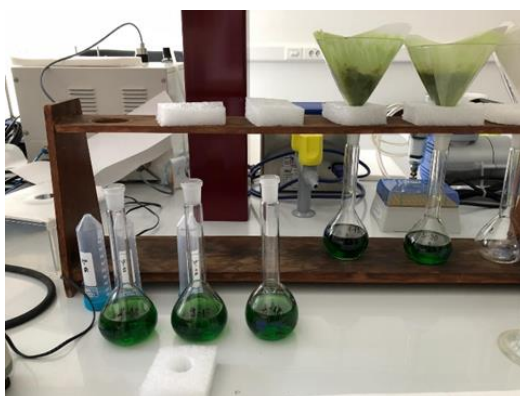
3.4. Kemijske analize

U laboratoriju Zavoda za kemiju Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog fakulteta napravljene su kemijske analize kako bi se odredio sadržaj suhe tvari i bioaktivnih tvari (ukupni klorofil, ukupni polifenoli i ukupni flavonoidi) te antioksidacijska aktivnost.

3.4.1. Priprema uzorka salate

Neposredno nakon berbe salate u Zavod za kemiju dostavljeni su reprezentativni uzorci (3 rozete) svakog tretmana na kemijsku analizu. Tri rozete salate sa svake obračunske parcele su

poprečno narezane na četvrtinke. Po jedna četvrtinka svake od tri rozete korištena je za pripremu reprezentativnog uzorka homogenizacijom u laboratorijskom homogenizatoru (60 sekundi). Nakon primarne homogenizacije, u uzorcima je utvrđen je sadržaj suhe tvari i ukupnog klorofila, a 30 g uzorka dalje je ekstrahirano u laboratorijskom mlinu sa 100 mL 96 %-tnog etanola kroz 30 sekundi. Ekstrakti (slika 3.3.1) su zatim profiltrirani kroz Whatman no.4 filter papir te dopunjeni do oznake s otapalom (destilirana voda). Pripremljeni ekstrakti korišteni su za utvrđivanje ukupnih klorofila, polifenola i flavonoida te antioksidacijske aktivnosti.



Slika 3.3.1. Kemijska analiza uzoraka
Snimio: Filip Haramija

3.4.2. Suha tvar

Suha tvar je određena u halogenom vlagomjeru (slika 3.3.2.). Priprema uzoraka listova salate svakog tretmana obuhvaćala je: pranje destiliranom vodom, brisanje papirnatim ručnicima i usitnjavanje u mikseru. Po pet grama pripremljenih uzoraka sušeno je u halogenom vlagomjeru do konstantne mase, a količina suhe tvari prikazana je kao udio (%) u ukupnoj masi uzorka.



Slika 3.3.2. Halogeni vlagomjer za utvrđivanje količine suhe tvari
Snimio: Filip Haramija

3.4.3. Ukupni klorofil

Metoda određivanja ukupnih klorofila se temelji na ekstrakciji pigmenata s 80%-tnim acetonom. Intenzitet nastalog obojenja se mjeri spektrofotometrijski pri 663 i 645 nm, a kvantificira se prema jednadžbama od Huang i sur. (2007). Odvaja se 0,1 g homogenizirane salate i doda 25 mL 80%-tnog acetona te se vorteksira 2 minute. Nakon ekstrakcije, ekstrakt se filtrira kroz Whatman no.4 filter papir i dopuni s otapalom do oznake. Priprema ekstrakata i mjerenja se provode u triplicatima, a rezultati su izraženi kao srednja vrijednost $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ suhe tvari (ST).

3.4.4. Ukupni polifenoli

Ukupni polifenoli određeni su pomoću Folin Ciocalteu metode. Ekstrakt salate od 0,1 ml pomiješano je s 7,9 ml destilirane vode, 0,5 ml Folin Ciocalteu reagensa i 1,5 ml 20 %-tnog natrijevog karbonata. Folin Ciocalteu reagens je razrijeđen s vodom u omjeru 1:2. Dobivena mješavina se vorteksira te se ostavi stajati 2 sata na sobnoj temperaturi kako bi se reakcija provela u potpunosti. Optička gustoća mjerena je spektrofotometrom na 765 nm dok su rezultati izraženi u mg ekvivalenata galne kiseline (mg EGK g^{-1} ST)(Jatoi i sur. 2017).

3.4.5. Ukupni flavonoidi

Određivanje ukupnih flavonoida provodi se tako da se u tikvicu od 10 mL doda 1 mL uzorka, 4 mL vode te 300 μL otopine natrijevog nitrita ($0,5 \text{ g dm}^{-3}$), vorteksira i ostavi stajati 5 minuta, nakon čega se doda 300 μL otopine aluminijevog klorida (1 g dm^{-3}). Nakon 6 minuta, doda se 2 mL NaOH (1 mol dm^{-3}) te se do oznake nadopuni destiliranom vodom. Rezultati se izražavaju kao mg ekvivalenata kvercetina (mg KE g^{-1} ST).

3.4.6. Antioksidacijska aktivnost

Kod mjerenja antioksidacijske aktivnosti koristila se ABTS metoda. Ova metoda se koristi za određivanje sposobnosti uklanjanja radikala (Pregiban, 2017). Antioksidacijska aktivnost određena je pomoću ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonske kiseline)) reagensa (Jatoi i sur. 2017), a rezultati su izraženi u μmol ekvivalenata troloksa (ET) po gramu suhe tvari ($\mu\text{mol ET} \cdot \text{g}^{-1}$ ST)

4. Rezultati istraživanja i rasprava

4.1. Morfološka svojstva

U tablici 4.1.1. prikazan je utjecaj tretmana na visinu i promjer rozete salate. Visina salate bila je pod značajnim utjecajem biopolimernih mikročestica. Značajno veća visina salate izmjerena je kod kontrole (19,7 cm), dok je kod primjene kapsula Cu-c izmjerena značajno manja visina salate (18,0 cm). Ostali tretmani rezultirali su statistički podjednakom visinom rozete. Ovisno o tretmanu, utvrđena je standardna devijacija u rasponu od 0,00 do 1,53. U promjeru salate nisu utvrđene značajne razlike između testiranih tretmana i kontrolne varijante. Najveće odstupanje od srednje vrijednosti (standardna devijacija) zabilježeno je pri tretmanu CaTv mikrosferama (st.dev.=2,52), dok pri primjeni alginat/kitozan mikrokapsula odstupanja nisu utvrđena.

Tablica 4.1.1. Utjecaj biopolimernih mikrokapsula na visinu (cm) i promjer (cm) salate.

Tretman	Visina (cm)	Promjer (cm)
Ca	19,3 ^{ab} ± 1,15	24,0 ± 2,00
Cu	18,7 ^{ab} ± 0,58	23,0 ± 1,00
CaTv	19,3 ^{ab} ± 1,53	24,3 ± 2,52
CuTv	18,7 ^{ab} ± 0,58	24,7 ± 2,08
Ca-c	19,3 ^{ab} ± 1,53	24,0 ± 1,00
Cu-c	18,0 ^b ± 0,00	23,7 ± 0,58
CaTv-c	18,7 ^{ab} ± 0,58	24,0 ± 0,00
CuTv-c	19,3 ^{ab} ± 0,58	24,3 ± 0,31
Tv	19,3 ^{ab} ± 0,58	24,0 ± 1,00
K	19,7 ^a ± 0,58	24,3 ± 1,53
LSD $p \leq 0,05$	1,446	n.s.

Ca – alginat mikrosfere sa Ca²⁺; Cu – alginat mikrosfere sa Cu²⁺; CaTv – alginat mikrosfere sa Ca²⁺ i *T. Viride*; CuTv – alginat mikrosfere sa Cu²⁺ i *T. viride*; Ca-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca²⁺; Cu-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu²⁺; CaTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca²⁺ i *T. viride*; CuTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu²⁺ i *T. viride*; Tv – spore *T. Viride*; K – kontrola bez primjene mikrosfera ili mikrokapsula

Vrijednosti označene različitim slovima (a, b) se značajno razlikuju prema LSD testu; $p \leq 0,05$.

n.s. – između vrijednosti unutar stupca nema signifikantnih razlika

Spevec (2016) u istraživanju proizvodnje salate u hidroponu i akvaponu navodi visinu glavice sorte 'Great Lakes' 18,1 cm i sorte 'Vegorka' 16,3 cm, što su nešto manje vrijednosti od utvrđenih u ovom diplomskom radu sa salatama u tipu batavije.

Ali i sur. (2017) u istraživanju utjecaja gnojidbe dušikom i sklopa biljaka na rast i razvoj salate 'Grand Raphids' utvrdili su visinu glavice u rasponu od 20,17 do 35,05 cm sa signifikantnim razlikama među testiranim faktorima i njihovim interakcijama. Sve utvrđene vrijednosti bile su više od visine rozete salate u ovom diplomskom radu.

4.2. Prinos salate

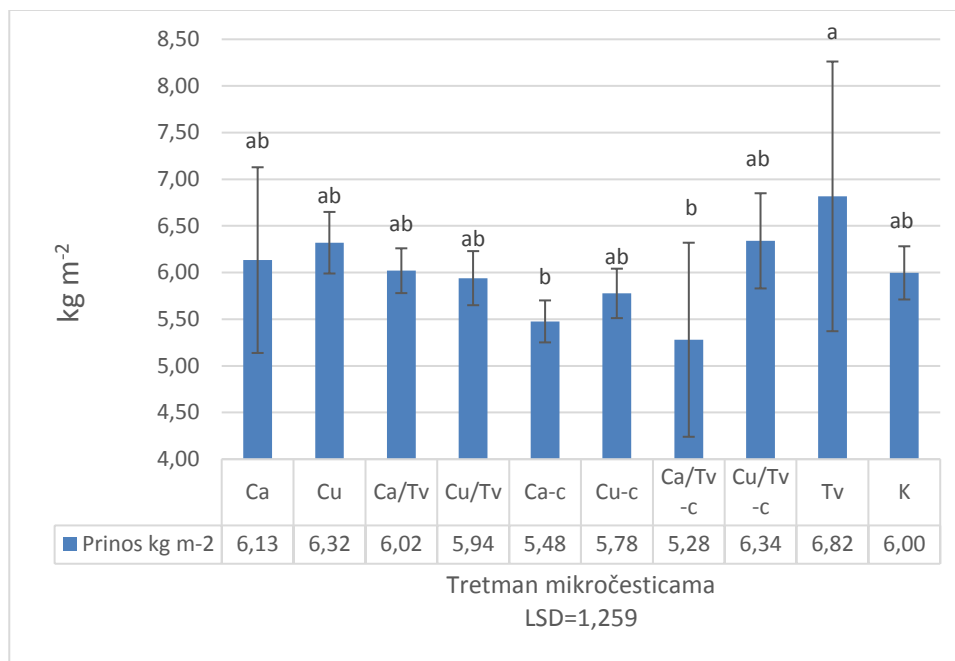
Statističkom analizom podataka (ANOVA, jednofaktorajalni model) nisu utvrđene značajne razlike u prinosu biomase salate ($p \leq 0,05$). Relativno najveći prinos biomase salate (tablica 4.2.1.) utvrđen je kod tretmana Tv (824,7 g) i CaTv (822 g). Relativno najmanju biomasu imao je tretman Cu-c (747,3 g). Također, primjenom biopolimernih mikročestica nisu utvrđene značajne razlike u tržnoj masi salate. Relativno najveća tržna masa utvrđena je kod tretmana Tv (726,3 g), a najmanja kod tretmana CaTv-c (623,3 g). Kod svih tretmana osim kod CaTv-c utvrđene su niže vrijednosti standardne devijacije za tržnu masu u odnosu na biomasu. Vrijednosti standardne devijacije biomase ukazuju na ujednačenost razvijenosti rozete u tehnološkoj zrelosti. U randmanu (%) koji prikazuje udio tržnog dijela rozete u ukupnoj biomasu uzgojene salate, nisu utvrđene statistički značajne razlike pri primjeni biopolimernih mikročestica. Relativno najveći randman primjetan je kod tretmana CuTv (89,8 %), dok je najmanji izmjeren kod tretmana CaCTv (83,1 %). Odstupanja od srednjih vrijednosti randmana bila su u rasponu od svega 0,10 kod tretmana Tv do 6,99 kod tretmana CuTv.

Tablica 4.2.1. Utjecaj biopolimernih kapsula na biomasu, tržnu masu te randman rozete salate

Tretman	Biomasa (g)	Tržna masa (g)	Randman (%)
Ca	751,3 ± 51,33	654,7 ± 46,76	87,1 ± 1,34
Cu	795,0 ± 65,09	683,3 ± 12,22	86,3 ± 5,49
CaTv	822,0 ± 132,28	701,7 ± 91,39	85,9 ± 3,29
CuTv	778,0 ± 141,81	692,0 ± 81,96	89,8 ± 6,99
Ca-c	760,3 ± 90,52	658,3 ± 69,87	86,8 ± 5,47
Cu-c	747,3 ± 43,00	653,3 ± 36,02	87,4 ± 1,96
CaTv-c	749,3 ± 42,34	623,3 ± 85,70	83,1 ± 8,72
CuTv-c	777,3 ± 172,77	682,7 ± 153,47	87,8 ± 0,74
Tv	824,7 ± 116,42	726,3 ± 102,07	88,1 ± 0,10
K	748,0 ± 164,17	662,3 ± 136,62	88,7 ± 1,32
LSD $p \leq 0,05$	n.s.	n.s.	n.s.

Ca – alginat mikrosfere sa Ca²⁺; Cu – alginat mikrosfere sa Cu²⁺; CaTv – alginat mikrosfere sa Ca²⁺ i T. Viride; CuTv – alginat mikrosfere sa Cu²⁺ i T. viride; Ca-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca²⁺; Cu-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu²⁺; CaTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca²⁺ i T. viride; CuTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu²⁺ i T. viride; Tv – spore T. Viride; K – kontrola bez primjene mikrosfera ili mikrokapsula
n.s. – između vrijednosti unutar stupca nema signifikantnih razlika

Prinos salate bio je u rasponu od 5,28 do 6,82 kg·m⁻² i bio je pod značajnim utjecajem tretmana mikročesticama (grafikon 4.2.1.). Statističkom analizom podataka utvrđeno da je primjenom tretmana Tv ostvaren značajno veći prinos (6,82 kg·m⁻²) u odnosu na tretmane mikročesticama Ca-c (5,48 kg·m⁻²) te CaTv-c (5,28 kg·m⁻²). Kod tretmana Tv zabilježena je i najveća vrijednost standardne devijacije među tretmanima (1,45). Prinosi ostalih testiranih tretmana bili su statistički podjednaki. Na kontrolnim parcelama ostvaren je prinos od 6 kg·m⁻² uz standardnu devijaciju 0,29.



Grafikon 4.2.1. Utjecaj biopolimernih mikročestica na prinos salate

Ca – alginat mikrosfere sa Ca²⁺; Cu – alginat mikrosfere sa Cu²⁺; CaTv – alginat mikrosfere sa Ca²⁺ i T. Viride; CuTv – alginat mikrosfere sa Cu²⁺ i T. viride; Ca-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca²⁺; Cu-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu²⁺; CaTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca²⁺ i T. viride; CuTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu²⁺ i T. viride; Tv - spore T. Viride; K – kontrola bez primjene mikrosfera ili mikrokapsula
Vrijednosti označene različitim slovima (a, b) se značajno razlikuju prema LSD testu; p≤0,05.

Heimler i sur. (2011) u usporednom istraživanju konvencionalne, ekološke i biodinamičke proizvodnje salate 'Batavia red Mohican' navode kako je spomenuta sorta u konvencionalnom uzgoju ostvarila prosječan prinos od 2,89 kg m⁻².

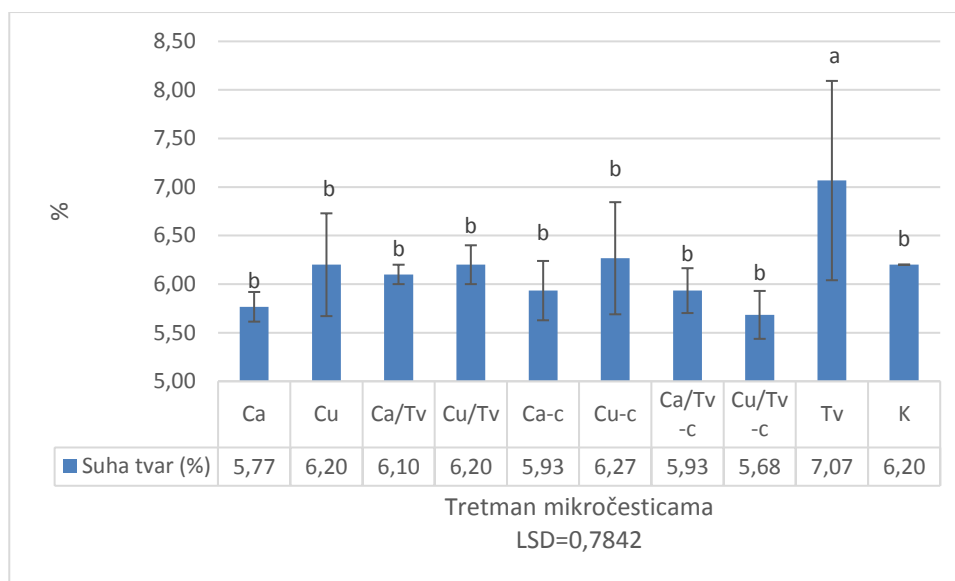
Ali i sur. (2017) u istraživanju utjecaja gnojidbe dušikom i sklopa u uzgoju salate navode prinos od 16,79 do 31,31 t ha⁻¹, što je značajno manje od prinosa salate ostvarenog u istraživanju za potrebe ovog diplomskog rada.

4.3. Suha tvar

Iz grafikona 4.3.1. vidljive su značajne razlike u udjelu suhe tvari salate s obzirom na testirane tretmane. Sadržaj suhe tvari bio je u rasponu od 5,77 do 7,07 %. Primjenom spora *Trichoderma viride* utvrđena je značajno veća količina suhe tvari (7,07 %) u listovima salate nego kod primjene ostalih tretmana. Kod istog je tretmana utvrđena i najveća vrijednost standardne devijacije (1,03).

Prema istraživanju Škvorc (2017) u ekološkom uzgoju salate uz primjenu pripravaka za jačanje biljaka (tradicionalni preparati od koprive i gaveza), najveća količina suhe tvari bila je 4,95 %. Navedeni sadržaj suhe tvari je manji od utvrđenog u ovom diplomskom radu kod svih tretmana mikročesticama kao i kontrolnom tretmanu.

Slamet i sur. (2017) su prilikom primjene različitih organskih gnojiva u proizvodnji salate utvrdili sadržaj suhe tvari u rasponu od 5,56 do 6,98 %, što je u skladu s rezultatima ovog istraživanja.



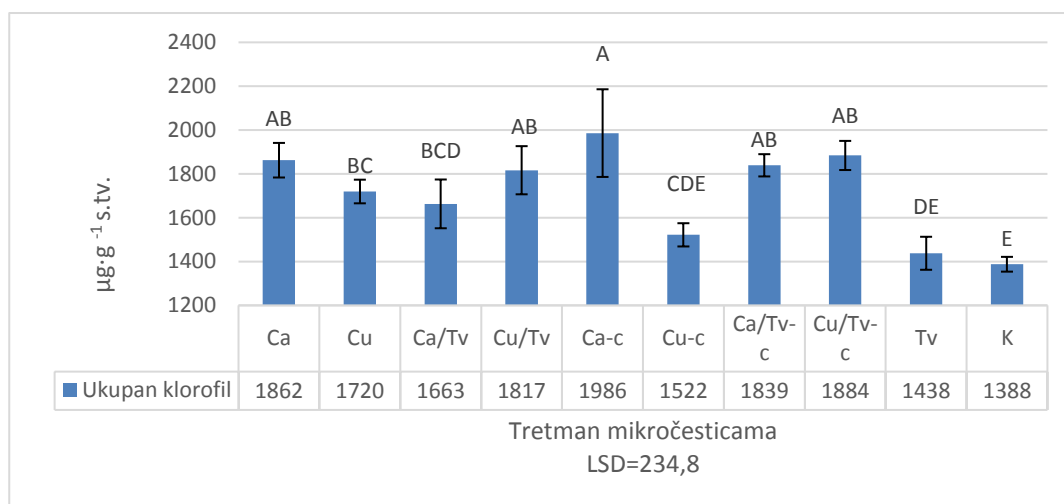
Grafikon 4.3.1. Utjecaj biopolimernih mikročestica na količinu suhe tvari u listovima salate

Ca – alginat mikrosfere sa Ca²⁺; Cu – alginat mikrosfere sa Cu²⁺; CaTv – alginat mikrosfere sa Ca²⁺ i T. Viride; CuTv – alginat mikrosfere sa Cu²⁺ i T. viride; Ca-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca²⁺; Cu-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu²⁺; CaTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca²⁺ i T. viride; CuTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu²⁺ i T.viride; Tv - spore T. Viride; K – kontrola bez primjene mikrosfera ili mikrokapsula
Vrijednosti označene različitim slovima (a, b) se značajno razlikuju prema LSD testu; p≤0,05.

4.4. Ukupni klorofil

U grafikonu 4.4.1. prikazana je količina ukupnog klorofila u lišću salate ovisna o primijenjenim mikročesticama, u rasponu od 1388 do 1986 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ST. Između tretmana utvrđena je visoko signifikantna razlika u sadržaju ukupnog klorofila. Najveća količina ukupnog klorofila ostvarena je kod tretmana Ca-c (1986 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ST), Ca (1862 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ST), CuTv (1817 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ST), CaTv-c (1839 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ST) te CuTv-c (1884 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ST). Kod kontrole (1388 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ST) te tretmana Tv (1438 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ST) i Cu-c (1522 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ST) zabilježen je značajno manji sadržaj ukupnog klorofila. Kod tretmana Ca-c zabilježena je i najveća vrijednost standardne devijacije (199,94), dok je kod kontrolnih biljaka koje su sadržavale najmanje klorofila utvrđena i najmanja standardna devijacija (33,71).

Mampholo i sur. (2016) utvrdili su količinu ukupnog klorofila od 2980 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ST u salati tip batavije, što je znatno više od utvrđene količine ukupnog klorofila u ovom diplomskom radu. Slamet i sur (2017) u istraživanju utjecaja gnojidbe dušikom na sastavnice fotosinteze, navode prosječnu količinu ukupnog klorofila od 0,770 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ST, što je mnogo manje od dobivenih rezultata u ovom diplomskom radu. Sličnu vrijednost ukupnog klorofila (0,9 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ svježe tvari) u lišću rige navode Toth i sur. (2018).



Grafikon 4.4.1. Utjecaj biopolimernih mikročestica na količinu klorofila u listovima salate

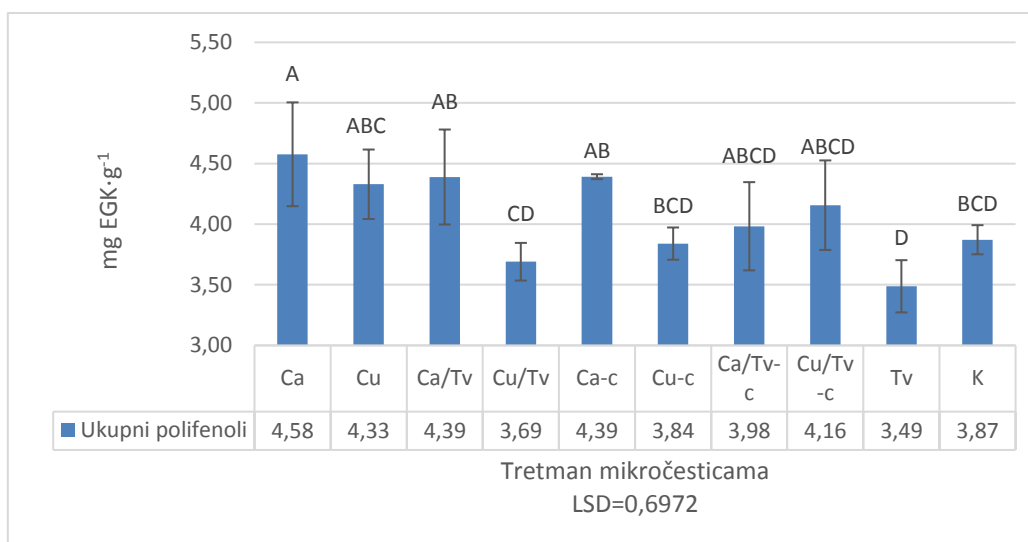
Ca – alginat mikrosfere sa Ca^{2+} ; Cu – alginat mikrosfere sa Cu^{2+} ; CaTv – alginat mikrosfere sa Ca^{2+} i T. Viride; CuTv – alginat mikrosfere sa Cu^{2+} i T. viride; Ca-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca^{2+} ; Cu-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu^{2+} ; CaTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca^{2+} i T. viride; CuTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu^{2+} i T.viride; Tv - spore T. Viride; K – kontrola bez primjene mikrosfera ili mikrokapsula
Vrijednosti označene različitim slovima (A, B) se značajno razlikuju prema LSD testu; $p \leq 0,01$.

4.5. Ukupni polifenoli

U sadržaju ukupnih polifenola u listovima salate utvrđene su visoko signifikantne razlike između tretmana (grafikon 4.5.1.). Statistički jednaka, najveća količina polifenola u listovima salate utvrđena je kod primjene Ca ($4,58 \text{ mg EGK} \cdot \text{g}^{-1} \text{ ST}$), Cu ($4,33 \text{ mg EGK} \cdot \text{g}^{-1} \text{ ST}$), CaTv ($4,39 \text{ mg EGK} \cdot \text{g}^{-1} \text{ ST}$), Ca-c ($4,39 \text{ mg EGK} \cdot \text{g}^{-1} \text{ ST}$), CaTv-c ($3,98 \text{ mg EGK} \cdot \text{g}^{-1} \text{ ST}$) te CuTv-c ($4,16 \text{ mg EGK} \cdot \text{g}^{-1} \text{ ST}$) mikročestica. Najmanja količina polifenola utvrđena kod primjene Tv ($3,49 \text{ mg EGK} \cdot \text{g}^{-1} \text{ ST}$), značajno je manja nego pri primjeni četiri tretmana koji su rezultirali najvećom količinom polifenola u listovima salate.

Romani i sur. (2002) u istraživanju ukupnih polifenola u salati navode veću količinu ukupnih polifenola u uzgoju na otvorenom nego u plasteniku. Uzgojem na otvorenom količina ukupnih polifenola je ovisno o starosti biljaka bila u rasponu od $1,35$ do $3,37 \text{ mg g}^{-1}$ svježe tvari dok je kod uzgoja salate u zaštićenom prostoru utvrđeno između $0,808$ do $2,86 \text{ mg g}^{-1}$ svježe tvari. Najbogatije polifenolima bile su biljke 5 dana nakon presađivanja.

Heimler i sur. (2011) kod različitih sustava uzgoja salate navode različite količine ukupnih polifenola: $1,76 \text{ mg EGK} \cdot \text{g}^{-1}$ svježe tvari u konvencionalnom sustavu proizvodnje, $2,07 \text{ mg EGK} \cdot \text{g}^{-1}$ svježe tvari u ekološkom sustavu i $2,36 \text{ mg EGK} \cdot \text{g}^{-1}$ svježe tvari u biodinamičkom sustavu proizvodnje. Toth i sur. (2018) utvrđuju manji sadržaj ukupnih fenola u listovima rige u rasponu od $1,35$ do $1,74 \text{ mg EGK} \cdot \text{g}^{-1}$ svježe tvari.



Grafikon 4.5.1. Utjecaj biopolimernih mikročestica na količinu ukupnih polifenola u listovima salate

Ca – alginat mikrosfere sa Ca²⁺; Cu – alginat mikrosfere sa Cu²⁺; CaTv – alginat mikrosfere sa Ca²⁺ i T. Viride; CuTv – alginat mikrosfere sa Cu²⁺ i T. viride; Ca-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca²⁺; Cu-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu²⁺; CaTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca²⁺ i T. viride; CuTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu²⁺ i T.viride; Tv - spore T. Viride; K – kontrola bez primjene mikrosfera ili mikrokapsula
Vrijednosti označene različitim slovima (A, B) se značajno razlikuju prema LSD testu; $p \leq 0,01$.

4.6. Ukupni flavonoidi

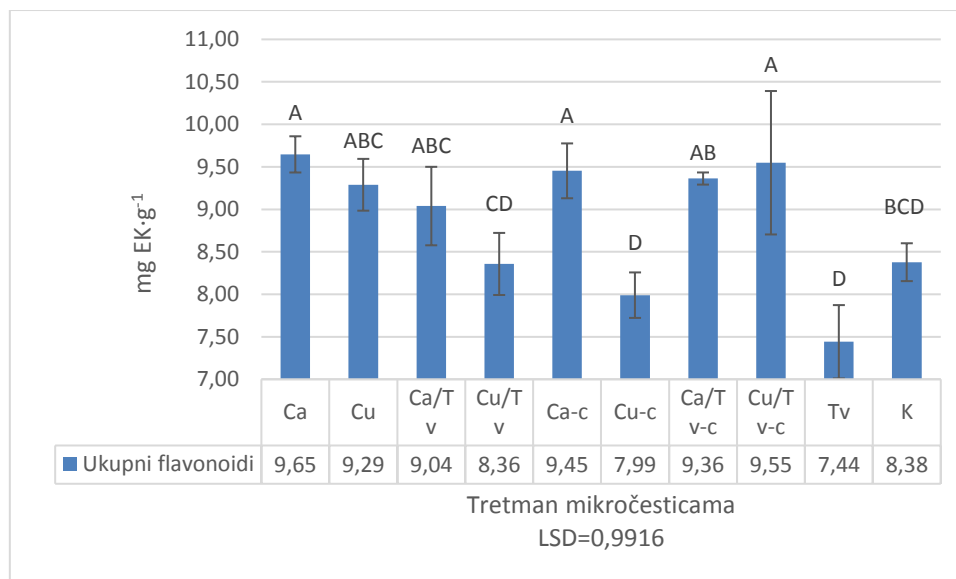
Primjena biopolimernih mikročestica u uzgoju salate značajno je utjecala i na količinu ukupnih flavonoida. Tako su kod primjene Ca (9,65 mg EK·g⁻¹ ST), Ca-c (9,45 mg EK·g⁻¹ ST), te CuTv-c (9,55 mg EK·g⁻¹ ST) mikročestica, utvrđene značajno veće vrijednosti u odnosu na primjenu tretmana CuTV, Cu-c, Tv i kontrolnu varijantu (tablica 4.5.1.). Najniža količina polifenola utvrđena primjenom tretmana Tv (7,44 mg EK·g⁻¹ ST). Vrijednosti standardne devijacije bile su rasponu od 0,071 kod CaTv-c do 0,844 kod CuTv-c.

U istraživanju Fan (2013) utvrđen je količina flavonoida u proizvodnji više sorata salate. Količina flavonoida u salati uzgajanoj u kontrolnim uvjetima (18/14 °C dan/noć) bila je između 4,29 i 16,14 mg EK·g⁻¹, dok je pod utjecajem temperaturnog stresa (28/20 °C dan/noć) količina flavonoida porasla i bila u rasonu od 12,89 do 29,24 mg EK·g⁻¹ ST.

Romani i sur. (2002) utvrdili su sadržaj ukupnih flavonoida u salati u uzgoju na otvorenom i u zaštićenom prostoru. Ukupni sadržaj flavonoida bio je u rasponu od 0,239 do 0,530 mg g⁻¹ svježe tvari, što je značajno manje u odnosu na dobivene rezultate u ovom diplomskom radu.

Heimler i sur (2011) kod različitih sustava uzgoja salate (konvencionalni, organski i biodimački) utvrđuju značajne razlike između testiranih sustava. Najniža količina flavonoida (1,09 mg g⁻¹ svježe tvari). utvrđena je u salati iz konvencionalnog uzgoja. Salata iz organskog, odnosno biodinamičkog uzgoja bila je bogatija flavonoidima, a utvrđene količine su iznosile 1,23 mg g⁻¹, odnosno, 1,39 mg g⁻¹ svježe tvari.

Zdravković i sur. (2014) su utvrdili kako količina ukupnih fenola kod različitih sorata salate varira od $68,87 \pm 0,55$ ('Emerald' u stakleniku) do $78,98 \pm 0,67$ mg GAE·g⁻¹ ST ('Neva' u plasteniku). Istovremeno je količina flavonoida bila u rasponu od $27,87 \pm 1,03$ ('Neva' u stakleniku) do $35,45 \pm 0,95$ mg RU·g⁻¹ ST ('Emerald' u stakleniku).



Grafikon 4.6.1. Utjecaj biopolimernih mikročestica na flavonoide u salati

Ca – alginat mikrosfere sa Ca²⁺; Cu – alginat mikrosfere sa Cu²⁺; CaTv – alginat mikrosfere sa Ca²⁺ i T. Viride; CuTv – alginat mikrosfere sa Cu²⁺ i T. viride; Ca-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca²⁺; Cu-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu²⁺; CaTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca²⁺ i T. viride; CuTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu²⁺ i T.viride; Tv - spore T. Viride; K – kontrola bez primjene mikrosfera ili mikrokapsula
Vrijednosti označene različitim slovima (A, B) se značajno razlikuju prema LSD testu; $p \leq 0,01$.

4.7. Antioksidacijska aktivnost

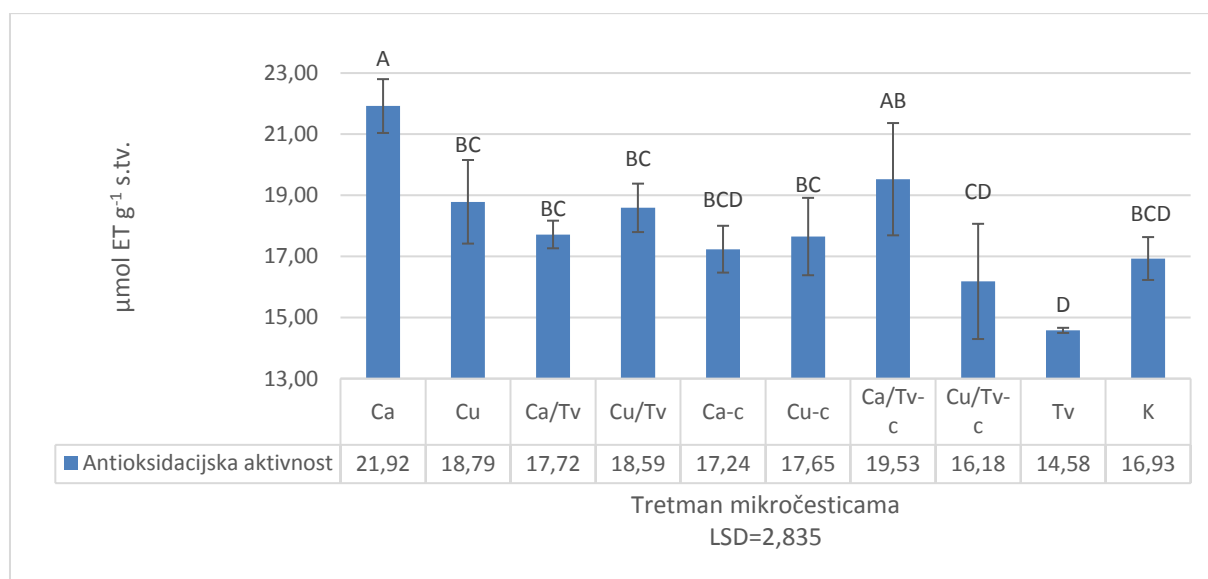
Utvrđene su visoko signifikantne razlike u antioksidacijskoj aktivnosti izmjerenoj ABTS testom među primijenjenim tretmanima. Najveća antioksidacijska aktivnost utvrđena je kod primjene mikrosfera Ca ($21,92 \mu\text{mol ET} \cdot \text{g}^{-1}$ ST) i mikrokapsula CaTv-c ($19,53 \mu\text{mol ET} \cdot \text{g}^{-1}$ ST). Značajno manja bila je kod primjene suspenzije spora Tv ($14,58 \mu\text{mol ET} \cdot \text{g}^{-1}$ ST) i mikrokapsula CuTv-c ($16,18 \mu\text{mol ET} \cdot \text{g}^{-1}$ ST). Antioksidacijska aktivnost biljaka uzgojenih bez primjene mikročestica iznosila je $16,93 \mu\text{mol ET} \cdot \text{g}^{-1}$ ST i bila statistički podjednaka sa svim tretmanima osim sa tretmanom mikrosferama Ca. Najveća vrijednost standardne devijacije (1,885) utvrđena je za tretman CuTv-c, dok je najmanja (0,084) uzvrđena za tretman Tv.

Gan i Azrina (2016) utvrđuju antioksidacijsku aktivnost kod različitih sorata salate čija je vrijednost bila u rasponu od 775,55 do 4485,41 EC₅₀ (μg ml⁻¹).

Zdravković i sur. (2014) su zapazili da sorte salate uzgajane u stakleniku imaju nešto veći sadržaj L-askorbinske kiseline od istih sorti iz plastenika. Navode kako visok sadržaj fenolnih komponenti uzrokuje dobre antioksidativne osobine u svim testiranim sortama.

Boo i sur. (2011) su utvrdili kako se porastom temperature tijekom uzgoja salate sa 13/10 °C (dan/noć) na 30/25 °C antioksidacijska aktivnost (DPPH) smanjila sa 60,18 na 5,87 $\mu\text{mol ET}\cdot\text{g}^{-1}$ ST. Antioksidacijska aktivnost se neznatno smanjila pri promjeni temperature sa 13/10 °C na 20/13 °C, dok je najveći pad zabilježen pri promjeni sa 25/20 °C na 30/25 °C.

Prilikom testiranja različitih tipova salate (*iceberg*, *romaine*, *continental*, *red oak leaf* i *lollo rosso*) te endivije (*escarole*) Llorach i sur. (2008) utvrdili su raspon antioksidacijske aktivnosti (ABTS) od $61,3 \pm 5,4$ kod *iceberg* salate do $647,8 \pm 16,3$ mg ET 100 g⁻¹ svježe tvari kod *lollo rosso* salate. Kod endivije je antioksidacijska aktivnost iznosila $93,4 \pm 9,5$ mg ET 100 g⁻¹ svježe tvari.



Grafikon 4.7.1. Utjecaj biopolimernih mikročestica na antioksidacijsku aktivnost listova salate

Ca – alginat mikrosfere sa Ca²⁺; Cu – alginat mikrosfere sa Cu²⁺; CaTv – alginat mikrosfere sa Ca²⁺ i T. Viride; CuTv – alginat mikrosfere sa Cu²⁺ i T. viride; Ca-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca²⁺; Cu-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu²⁺; CaTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Ca²⁺ i T. viride; CuTv-c – alginat/kitozan mikrokapsule sa Cu²⁺ i T.viride; Tv - spore T. Viride; K – kontrola bez primjene mikrosfera ili mikrokapsula
Vrijednosti označene različitim slovima (a, b) se značajno razlikuju prema LSD testu; p≤0,01.

5. Zaključak

Temeljem istraživanja učinka mikroinkapsuliranih aktivnih tvari na morfološka svojstva i prinos te sadržaj bioaktivnih spojeva i antioksidacijsku aktivnost može se zaključiti:

- primjenom različitih formulacija biopolimernih mikročestica nisu ostvarene značajno veće vrijednosti morfometrijskih svojstava rozete (visina, promjer, biomasa, tržna masa) i prinosa salate u odnosu na kontrolni tretman bez primjene mikročestica; relativno najpovoljniji utjecaj na promatrana svojstva imala je primjena spora *Trichoderme viride* suspendiranih u fiziološkoj otopini u koncentraciji 0,9 %,
- primjena spora *Trichoderme viride* suspendiranih u fiziološkoj otopini rezultirala je značajno većom količinom suhe tvari (7,07 %) u listovima salate u odnosu na druge tretmane biopolimernim mikročesticama i kontrolu (od 5,68 do 6,20 %),
- najveća količina ukupnog klorofila, ukupnih polifenola i ukupnih flavonoida te najveća antioksidacijska aktivnost u listovima salate ostvarena je primjenom alginat mikrosfera koje su sadržavale Ca^{2+} ione (Ca) i alginat/kitozan mikrokapsula koje su sadržavale Ca^{2+} ione i spore *Trichoderme viride* (CaTv-c),
- alginat/kitozan mikrokapsule koje su sadržavale Ca^{2+} (Ca-c) i alginat/kitozan mikrokapsule koje su sadržavale Cu^{2+} ione i spore *Trichoderme viride* također su rezultirale najvećom količinom ukupnog klorofila, ukupnih polifenola i ukupnih flavonoida, ali ne i najvećom antioksidacijskom aktivnosti,

Na temelju ostvarenih rezultata, primjena biopolimernih mikročestica može se preporučiti u proljetnom roku uzgoja salate na otvorenome s ciljem povećanja količine fitokemikalija. Ujedno je potrebno nastaviti istraživanje primjene biopolimernih mikročestice na dostupnom sortimentu u različitim rokovima uzgoja, odnosno, agroekološkim uvjetima.

6. Popis literature

1. Ali M.A., Uddain J. Hasan M.R., Tahsin A.K.M.M., Islam M.N. (2017). Growth and yield of lettuce (*Lactuca Sativa* L.) influenced as nitrogen fertilizer and plant spacing. IOSR Journal of agriculture and veterinary science 10(6): 62-71.
2. Bedek M. (2018). Fizikalno-kemijska karakterizacija i mehanizmi otpuštanja *Trichoderma viride* spora i kalcijevih iona iz mikrosfera kalcijevog alginata. Rad za Rektorovu nagradu. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet.
3. Boo H.O., Heo B.G., Gorinstein S., Chon S.U. (2011). Positive effects of temperature and growth conditions on enzymatic and antioxidant status in lettuce plants. Plant Science 181(4): 479-484.
4. Fan S. (2013). Factors affecting health-beneficial compounds in lettuce. Master Thesis. McGill University, Montreal; Quebec, Canada.
5. Državni hidrometeorološki zavod.
http://meteo.hr/klima.php?section=klima_podaci¶m=k1&Grad=zagreb_maksimir
Pristupljeno: 8. siječnja 2019.
6. Gan Y.Z., Azrina A. (2017). Antioxidant properties of selected varieties of lettuce (*Lactuca sativa* L) commercially available in Malaysia. International Food Research Journal 23(6): 2357-2362.
7. Heimler D., Vignolini P., Arfaioli P., Isolani L., Romani A. (2011). Conventional, organic and biodynamic farming: differences in polyphenol content and antioxidant activity of Batavia lettuce. Journal of the Science of Food and Agriculture 92(3): 551-556.
8. Jatoi M.A., Jurić S., Vidrih R., Vinceković M., Vuković M., Jemrić T. (2017). The effects of postharvest application of lecithin to improve storage potential and quality of fresh goji (*Lycium barbarum* L.) berries. Food Chemistry 230: 241249.
9. Jurčević J. (2015). Utjecaj led osvjetljenja na klijavost salate. Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
10. Krmpotić J. (2012). Hidroponski uzgoj salate u Luxar AG d.d., Zaprešić. Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
11. Lešić R., Borović J., Buturac I., Čustić M., Poljak M., Romić D. (2016). Povrćarstvo. Zrinski d.d., Čakovec.
12. Limantara L., Dettling M., Indrawati R., Indriatmoko, Brotosudarmo T.H.P (2014). Analysis on the Chlorophyll of Commercial Green Leafy Vegetables. Procedia Chemistry 14: 225-231.

13. Llorach R., Martínez-Sánchez A., Tomás-Barberán F.A., Gil M.I., Ferreres F. (2008). Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. *Food Chemistry* 108(3): 1028–1038.
14. Mampholo M. B., Maboko M., Soundy P., Sivakumar D. (2016). Phytochemicals and overall quality of leafy lettuce (*Lactuca sativa* L.) varieties grown in closed hydroponic system. *Journal of Food Quality* 39: 805-815.
15. Matotan Z. (2004). *Suvremena proizvodnja povrća*. Globus, Zagreb.
16. Morna A. (2015). Chlorophyll and carotenoid content in lettuce (*Lactuca sativa* L.) and nettle leaves (*Urtica dioica* L.). *Analele Universității din Oradea, Fascicula: Ecotoxicologie, Zootehnie și Tehnologii de Industrie Alimentară XIV/A*: 243-248.
17. Nazzaro F., Pierangelo O., Fratianni F., Coppola R. (2012). Microencapsulation in food science and biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology* 23(2): 182-186.
18. Oxley J. (2015). Microencapsulation: Guide to industrial applications. U: *Bioencapsulation innovations*. Bioencapsulation Research Group. 16-17.
19. Parađiković N. (2009). *Opće i specijalno povrćarstvo*. Poljoprivredni fakultet Osijek.
20. Pregiban K. (2017). Metode mjerenja antioksidativne aktivnosti. Završni rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku
21. Slamet W., Purbajanti E. D., Darmawati A., Fuskhah E. (2017). Leaf area indeks, chlorophyll, photosynthesis rate of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under N-organic fertilizer. *Indian Journal of Agricultural Research* 51(4): 365-369.
22. Spevec P. (2016). Dinamika rasta i prinos radiča i salate u plutajućem akvaponu. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
23. Škvorc J. (2017). Pripravci za jačanje biljaka u ekološkom uzgoju salate. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
24. Topolovec-Pintarić S., Vinceković M., Jalšenjak N., Martinko K., Žutić I., Đermić E. (2017). Prototype of tomato biofertilizer: *Trichoderma viride* and calcium based microcapsules. *Proceedings of the 52nd Croatian and 12th International symposium on agriculture* 100-104.
25. Topolovec-Pintarić S., Žutić I., Đermić E. (2013). Enhanced growth of cabbage and red beet by *Trichoderma viride*. *Acta agriculturae Slovenica*. 101: 87-92.
26. Toth N. (2016). Power point prezentacije s predavanja modula Proizvodnja povrća, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
27. Toth N., Jerončić L., Čoga L., Benko B., Fabek Uher S., Šic Žlabur J. (2018). Macroelements and specialized metabolites content under salt stress in hidroponically grown rocket. *Proceedings of 9th International congress of Food Technologists, Biotechnologists and Nutritionist*, 108-1012

28. Usmiati S., Richana N., Mangunwidjaja D., Noor E., Prangdimurti E. (2014). The using of ionic gelation method based on polysaccharides for encapsulating the macromolecules– a review. International conference on food security and nutrition. 67: 79-84.
29. Vinceković M., Jalšenjak N., Topolovec-Pintarić S., Đermić E., Bujan M., Jurić S. (2016). Encapsulation of biological and chemical agents for plant nutrition and protection: Chitosan/Alginate microcapsules loaded with copper cations and *Trichoderma viride*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 64: 8073-8083.
30. Vinceković M., Jurić S., Đermić E., Topolovec-Pintarić S. (2017). Kinetics and mechanisms of chemical and biological agents release from biopolymeric microcapsules. Journal of Agricultural and Food Chemistry 65: 9608-9617.
31. Zdravković J.M., Aćamović-Djoković G.S., Mladenović J.D., Pavlović R.M., Zdravković M.S. (2014). Antioxidant capacity and contents of phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in lettuce. Hemijska Industrija 68(2): 193–198.
32. Zivcak M., Bruckova K., Sytar O., Brestic M., Olsovska K., Allakhverdiev S.I. (2017). Lettuce flavonoids screening and phenotyping by chlorophyll fluorescence excitation ratio. Planta 245: 1215–1229.

Životopis

Filip Haramija rođen je 11. travnja 1993. godine u Koprivnici. Osnovnu školu pohađao je u Ludbregu. Nakon osnovnoškolsko obrazovanja završava Opću gimnaziju 'Fran Galović' u Koprivnici. Preddiplomski studij Biljne znanosti na Sveučilištu u Zagrebu Agronomskom fakultetu upisuje 2012., a završava 2016. godine. Iste godine upisuje diplomski studij Hortikultura-Povrćarstvo. Uz fakultet, dodatno se obrazuje te završava edukaciju o provedbi EU projekata, dok na drugoj godini diplomskog studija radi kao vanjski suradnik Croatia osiguranja d.d. na području procjena šteta od vremenskih uvjeta i divljači.

U slobodno vrijeme bavi se fotografijom te procjenama vrijednosti zemljišta kao asistent.